

بررسی تنوع ژنتیکی نمونه های *Aegilops crassa* ایران با استفاده از مارکرهای SSR

مجتبی رنجبر^۱، محمد رضا نقوی^۱، عباسعلی زالی^۱، محمد جعفرآقایی^۲

سید مصطفی پیرسیدی^۳، محسن مردی^۳

۱- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادگروه زراعت و اصلاح نباتات،

۲- استادیار موسسه تحقیقات نهال و بذر، بخش ژنتیک

۳- به ترتیب کارشناس ارشد و استادیار پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج

نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیک: ranjbarm57@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۷۰ نمونه *Aegilops crassa*، ۶۳ نمونه تتراپلوئید و ۷ نمونه هگزاپلوئید، از ۲۱ جفت توالیهای ساده تکراری ریزماهواره استفاده شد که ۲۰ جفت از پرایمرها چند شکلی مناسبی نشان دادند. در مجموع ۱۴۰ آلل برای تمامی لوکوس ها مشخص گردید که در دامنه بین ۲ تا ۱۰ الل و با میانگین ۷ الل برای هر لوکوس قرار داشتند. محتوای اطلاعات چند شکلی^۱ (PIC) از ۰/۱۶ برای مکان ژنی Xgwm190، تا ۰/۴۴ برای مکان ژنی Xgwm161 متفاوت بود. همچنین شاخص نشانگر^۲ (MI) از ۰/۶۴ برای مکان ژنی Xgwm190 تا ۳/۲ برای مکان ژنی Xgwm642، متفاوت بود. میانگین شباهت ژنتیکی محاسبه شده بر اساس اطلاعات نشانگرهای ریزماهواره برابر ۰/۳۳ بود و از ۰/۰۳۶ (بین دو ژنوتیپ از کردستان و ایلام) تا ۰/۹۲ (بین دو ژنوتیپ از کردستان و آذربایجان غربی) متفاوت بود. روشهای گروه بندی کلاستر و تجزیه به مختصات اصلی^۳ (PCO) توانست به طور کامل نمونه های تتراپلوئید و هگزاپلوئید را از هم تفکیک نماید، همچنین هیچگونه ارتباط جغرافیایی و مولکولی بین نمونه های مورد بررسی مشاهده نگردید که نشان دهنده تفاوت ژنتیکی این نمونه ها می باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که SSR برای مدیریت منبع ژنتیکی نمونه های *Ae. crassa* مناسب می باشند.

واژه های کلیدی

ریزماهواره ها،

Ae. crassa،

تنوع ژنتیکی،

تجزیه خوشه ای

مقدمه

آزیلوپس ها شامل ۲۱ گونه می باشند که در ۶ زیرجنس طبقه بندی می شوند و بعضی از آنها به علت داشتن ژنوم D و اهمیت آن در کیفیت نان می توانند با واریته های گندم تلاقی داده

^۱. Polymorphic Information Content (PIC)

^۲. Marker Index (MI)

^۳. Principle Coordinate Analysis

شوند (۶، ۲۲). گونه های جنس آزیلوپس در شمال غربی و مرکز آسیا و ایران و سرتاسر دریای مدیترانه پراکنده شده اند (۹). مرکز اولیه جنس آزیلوپس طبق بررسی های مختلف (۱۱، ۲۲، ۲۴) در هلال حاصلخیز بوده است، زیرا مقدار زیادی از گونه های آزیلوپس نسبت به مناطق دیگر در این منطقه یافت می شوند. این جنس دارای پتانسیل بالایی در اصلاح گونه های گندم برای مقاومت در مقابل تنشهای زنده و غیر زنده می باشد (۲۵). در ایران نیز تقریباً ۱۷ گونه از آزیلوپس ها شناسایی شده اند، که از جمله آنها می توان به گونه *Ae. crassa* اشاره نمود که دارای دو سیتوتیپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید با ژنوم ($2n=4x=28$, DDXX) و ($2D_2$) و ($2n=6x=42$, DDXXD) می باشد و عموماً از نظر ساختار مورفولوژیکی غیر قابل تفکیک می باشند.

این گونه دارای تنوع مورفولوژیکی بسیار وسیع برای تمامی صفات مشخصه از قبیل اندازه، شکل، ساختمان و رنگ سنبله و سنبلهچه، اندازه، شکل و محل اتصال ریشک است (۱۱). همچنین تجزیه جفت شدن کروموزوم های میوزی در هیبریدهای بین سیتوتیپ های تتراپلوئید و هگزاپلوئید *Ae. crassa* بیانگر آن است که فرم هگزاپلوئید از هیبریداسیون بین فرم تتراپلوئید *Ae. crassa* و *Ae. tauschii* (ژنوم DD) حاصل گردیده است (۴، ۲۶). اما در حال حاضر منشا سیتوتیپ تتراپلوئید *Ae. crassa* را نمی توان با دقت تعیین کرد. بنظر می رسد ژنوم D گونه *Ae. crassa* از ژنوم *Ae. tauschii* مشتق گردیده و سپس در طی گونه زایی مشمول تغییرات اساسی گردیده است (۲). پراکنش گونه *Ae. crassa* شامل مناطق ترکیه، لبنان، فلسطین، سوریه، عراق، ایران، افغانستان و جنوب ترکمنستان گزارش گردیده است (۱۱، ۲۲). بررسی تنوع ژنتیکی جنس ها و گونه های مختلف اطلاعات مفیدی را در استفاده از آنها در برنامه های اصلاحی و ردیابی تکامل آنها فراهم آورد. برای بررسی تنوع ژنتیکی می توان از مارکر های مورفولوژیکی، پروتئینی و مارکر های DNA استفاده نمود. مارکر های DNA نسبت به مارکر های مورفولوژیکی و پروتئینی کاربردی تر و دارای مزایای بیشتری می باشند. از جمله مارکر های DNA،

مارکرهای ریز ماهواره ها می باشند که به علت دارا بودن خاصیت چند آلی، وراثت هم بارز، فراوانی نسبی و پوشش وسیع ژنومی و همچنین سهولت آشکار سازی و تشخیص کاربرد فراوانی دارند (۱۷، ۲۰). تا کنون مطالعات مختلف در بررسی تنوع ژنتیکی بعضی از گونه های آزیلوپس انجام گرفته است، ولی تا کنون هیچگونه تحقیقی در بررسی تنوع ژنتیکی *Ae. crassa* صورت نگرفته است. به عنوان مثال Kochieva و همکاران (۲۰۰۴) تنوع ژنتیکی ۷۴ توده از گونه های *Ae. crassa*، *Ae. juvenalis*، *Ae. vavilovii*، *Ae. cylindrica*، *Ae. tauschii* را بوسیله مارکر RAPD مورد ارزیابی قرار دادند و بالاترین تنوع داخل گونه ای را در *Ae. tauschii* و کمترین تنوع داخل گونه ای را در گونه های *Ae. vavilovii* و *Ae. crassa* گزارش نمودند (۸). Lelley و همکاران (۲۰۰۰) به منظور مطالعه فیلوژنی بین *Ae. tauschii* و گندم نان، از هر کدام از این دو گونه ۶۰ نمونه را با استفاده از ۱۴ آغازگر ریزماهوره گندم مور بررسی قرار دادند. آنها بطور متوسط ۶/۵ و ۴ ال را در هر مکان ژنی به ترتیب برای *Ae. tauschii* و گندم شناسایی نمودند (۱۲). Kazutoshi و همکاران (۱۹۹۸) تنوع ژنتیکی بین ۱۱۲ توده از *Ae. tauschii*، *Ae. cylindrica* (ژنوم CCDD)، *Ae. crassa* (ژنوم DDMM)، *Ae. biuncialis* (ژنوم UUMM) و *Ae. trincialis* (ژنوم UUCC) جمع آوری شده از آسیای مرکزی و شمال منطقه قفقاز را بوسیله مارکر RAPD مورد بررسی قرار دادند و در نهایت در این تحقیق ۲۰۲ باند قابل نمره دهی مشاهده نمودند و گونه های آزیلوپس به طور کلی به دو گروه اصلی که یکی شامل گونه های با ژنوم D و دیگری شامل گونه های با ژنوم U تقسیم شدند. (۹). رنجبر و همکاران (۲۰۰۷) تنوع مورفولوژیکی ۱۲۲ نمونه از *Ae. crassa* بومی ایران را با استفاده از ۱۴ صفت کمی مورد ارزیابی قرار دادند و دریافتند که ارتباطی بین تنوع ژنتیکی و منشأ جغرافیایی آنها وجود ندارد (۱۶). همچنین این پژوهشگران با مطالعه سیتوژنتیکی و فلوسیتومتری ۷۰ نمونه *Ae. crassa* بومی ایران ۷ نمونه هگزاپلوئید و ۶۳ نمونه تتراپلوئید را شناسایی کردند (۱). اگرچه یک پراکنش وسیعی از آزیلوپس کراسا در ایران

گزارش شده است (۶) اما اطلاعات کمی درباره این گونه در ایران وجود دارد. هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی نمونه های *Ae. crassa* جمع آوری شده از تعدادی از مناطق ایران با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره می باشد.

مواد و روشها

مواد گیاهی

در این تحقیق از ۷۰ نمونه *Ae. crassa* که از ۱۵ استان شامل همدان، ایلام، زنجان، آذربایجان غربی، قزوین، فارس، چهارمحال و بختیاری، کرمانشاه، خراسان رضوی، لرستان، آذربایجان شرقی، خراسان شمالی، مرکزی، کردستان و خوزستان که توسط بانک ژن گیاهی ملی ایران، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذرکرج جمع آوری شده بود، استفاده گردید (جدول ۱) (شکل ۱). بر اساس مطالعه سیتوژنتیکی انجام شده قبلاً مشخص شده بود که ۶۳ نمونه تتراپلوئید و ۷ نمونه هگزاپلوئید می باشند (۱).

تجزیه مولکولی

تعداد ۲۱ جفت نشانگر ریزماهواره در این بررسی استفاده شد که جداسازی این مارکرهای SSR قبلاً به وسیله Roder و همکاران (۱۷) شرح داده شده است. استخراج DNA از نمونه های برگ و با استفاده از روش سقایی معروف و همکاران (۱۹) با اندکی تغییر انجام گرفت. واکنش زنجیره ای پلیمرز در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA ژنومی (غلظت ۵۰-۶۰ نانوگرم)، ۱/۵ میکرولیتر بافر 10X، ۱ میکرولیتر 1mM dNTPs، ۱ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای رو به جلو^۱ و رو به عقب^۲ (غلظت ۱۰ پیکومول)، ۰/۵ واحد آنزیم Taq پلی مراز، ۱/۲ میکرولیتر از کلرید منیزیم ۱۵ میلی مولار و در نهایت با ۷/۲ میکرولیتر آب دوبار تقطیر انجام شد. چرخه حرارتی شامل یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه، ۳۷ سیکل حرارتی که ۱۲ چرخه اول سیکل حرارتی به صورت Touch Down

برنامه ریزی شده بود، به این صورت که دمای اتصال آغازگر به رشته الگو ۱۰ درجه سانتیگراد بالاتر از دمای اتصال واقعی در نظر گرفته شد و در هر چرخه دور اول با کاهش ۰/۸ دما، به دمای اتصال واقعی رسید. در ۲۵ چرخه بعد دمای اتصال ثابت (بسته به دمای اتصال آغازگر) و با زمان ۳۰ ثانیه انجام شد، در هر چرخه نیز، زمان و دمای واسرشت سازی به ترتیب ۳۰ ثانیه و ۹۴ درجه در نظر گرفته شد. همچنین زمان و دمای بسط رشته نیز به ترتیب ۱ دقیقه و ۷۲ درجه بود. محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل پلی اکریلامید ۶ درصد واسرشته ساز تفکیک و رنگ آمیزی به روش نیترا نقره (۳) انجام گرفت.

نمردهی بر اساس وجود باند (۱) و عدم وجود باند (۰) صورت گرفت. میزان اطلاعات چندشکل (PIC) با استفاده از فرمول $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$ محاسبه گردید. بطوریکه P_i فراوانی آلل i ام و n تعداد آلل ها می باشد. همچنین میزان شاخص نشانگر (MI) با استفاده از فرمول $\beta MI = PIC \times N$ محاسبه گردید، بطوریکه N تعداد کل باند و β نسبت تعداد باند چند شکل به تعداد کل باند می باشد. سپس به کمک نرم افزار NTSYSpc 2.02 ماتریس تشابه با استفاده از روش دایس^۳ تهیه و سپس دندروگرام با الگوریتم PGMA^۴ ترسیم گردید. همچنین با استفاده از روش تجزیه به مختصات اصلی (PCO) گروه بندی نمونه ها در یک پلات دو بعدی بررسی شد.

³. Dice

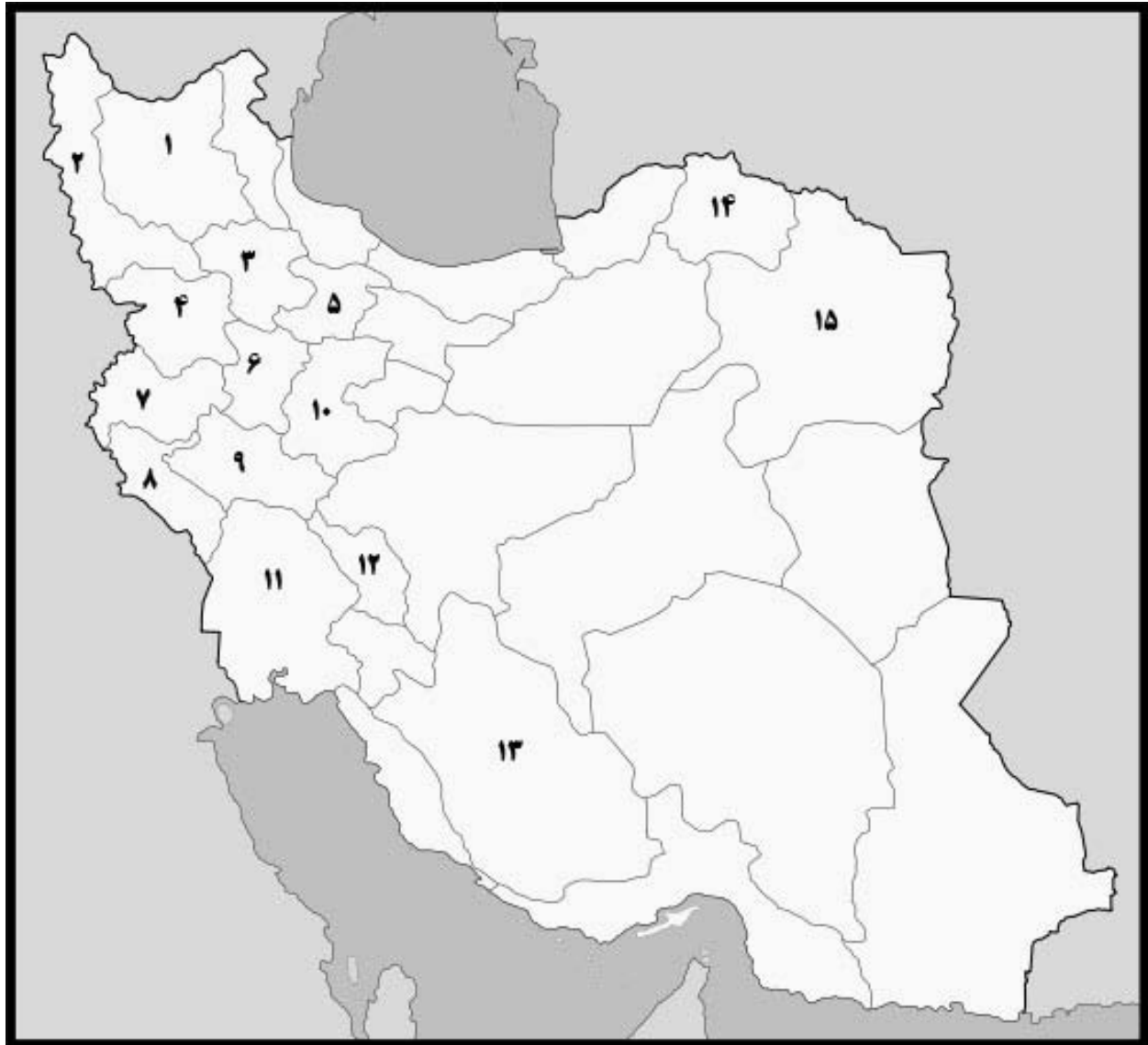
⁴. Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average

¹. Forward

². Reverse

جدول ۱- اطلاعات محل جمع آوری و سطح پلوئیدی نمونه های *Ae. crassa* مورد مطالعه

نام شهر	استان	سطح پلوئیدی	شماره	نام شهر	استان	سطح پلوئیدی	شماره
سقز	آذربایجان غربی	۴X	۳۶	همدان	همدان	۴X	۱
بجنورد	خراسان شمالی	۴X	۳۷	دهلران	ایلام	۴X	۲
اسلام آباد غرب	کرمانشاه	۶X	۳۸	ارومیه	آذربایجان غربی	۴X	۳
شیروان	ایلام	۶X	۳۹	خداآباد	زنجان	۴X	۴
شیروان	ایلام	۴X	۴۰	ارومیه	آذربایجان غربی	۴X	۵
شیروان	ایلام	۴X	۴۱	میاندواب	آذربایجان غربی	۴X	۶
جهرم	فارس	۴X	۴۲	قزوین	قزوین	۴X	۷
کرمانشاه	کرمانشاه	۴X	۴۳	شیراز	فارس	۴X	۸
مهاباد	آذربایجان غربی	۴X	۴۴	دهلران	ایلام	۴X	۹
میاندواب	آذربایجان غربی	۴X	۴۵	شیراز	فارس	۴X	۱۰
ماه نشان	زنجان	۴X	۴۶	لردگان	چهارمهل	۴X	۱۱
کرمانشاه	کرمانشاه	۴X	۴۷	پاوه	کرمانشاه	۴X	۱۲
کرمانشاه	کرمانشاه	۴X	۴۸	ارومیه	آذربایجان غربی	۴X	۱۳
قزوین	قزوین	۴X	۴۹	مشهد	خراسان رضوی	۶X	۱۴
سقز	کردستان	۴X	۵۰	ممسنی	فارس	۴X	۱۵
مهاباد	آذربایجان غربی	۴X	۵۱	درود	لرستان	۴X	۱۶
شبستر	آذربایجان شرقی	۴X	۵۲	سلماس	آذربایجان غربی	۴X	۱۷
دهلران	ایلام	۴X	۵۳	شیروان	ایلام	۴X	۱۸
مشهد	خراسان رضوی	۶X	۵۴	قزوین	قزوین	۴X	۱۹
ارومیه	آذربایجان غربی	۴X	۵۵	سقز	کردستان	۴X	۲۰
اشتیاق	مرکزی	۴X	۵۶	اردل	چهارمهل	۴X	۲۱
ممسنی	فارس	۴X	۵۷	مهران	ایلام	۴X	۲۲
بجنورد	خراسان شمالی	۴X	۵۸	نقده	آذربایجان غربی	۴X	۲۳
-	کرمانشاه	۴X	۵۹	دهلران	ایلام	۴X	۲۴
مشهد	خراسان رضوی	۶X	۶۰	شوش	خوزستان	۴X	۲۵
تفرش	مرکزی	۴X	۶۱	زنجان	زنجان	۴X	۲۶
بجنورد	خراسان شمالی	۴X	۶۲	خداآباد	زنجان	۴X	۲۷
مهاباد	آذربایجان غربی	۴X	۶۳	بیجار	کردستان	۴X	۲۸
مشهد	خراسان رضوی	۶X	۶۴	مشهد	خراسان رضوی	۶X	۲۹
سنندج	کردستان	۴X	۶۵	همدان	همدان	۴X	۳۰
کرمانشاه	کرمانشاه	۴X	۶۶	سنقر	کرمانشاه	۴X	۳۱
خرم آباد	لرستان	۴X	۶۷	کرمانشاه	کرمانشاه	۴X	۳۲
نامشخص	نامشخص	۴X	۶۸	سیاح	فارس	۴X	۳۳
نامشخص	نامشخص	۴X	۶۹	اسلام آباد غرب	کرمانشاه	۴X	۳۴
-	آذربایجان غربی	۴X	۷۰	همدان	همدان	۴X	۳۵



شکل ۱- پراکنش *Aegilops crassa* مورد بررسی در ایران

۱- آذربایجان شرقی ۲- آذربایجان غربی ۳- زنجان ۴- کردستان ۵- قزوین ۶- همدان ۷- کرمانشاه ۸- ایلام
۹- لرستان ۱۰- مرکزی ۱۱- خوزستان ۱۲- چهارمهل و بختیاری ۱۳- فارس ۱۴- خراسان شمالی ۱۵- خراسان رضوی

نتایج و بحث

از میان ۲۱ جفت نشانگر ریزماهواره مورد استفاده، تعداد ۲۰ جفت نشانگر چند شکلی نشان داده اند و امتیازدهی شدند. از این تعداد جفت نشانگر چند شکل، در مجموع ۱۴۰ آلل چند شکل حاصل شده است، بطوریکه تعداد آلل برای هر آغازگر از ۲ تا ۱۰ و با میانگین تعداد آلل ۷ برای هر آغازگر مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین تعداد آلل ها مربوط به آغازگرهای GWM33، GWM106، GWM484 با ۱۰ آلل چندشکل و کمترین آنها مربوط به آغازگر GWM161 با ۲ آلل چندشکل بود. در شکل (۲) الگوی بانندی تعدادی از نمونه های مورد بررسی را در جفت نشانگر Xgwm469 نشان داده شده است. از آنجائیکه میانگین تعداد آلل هر نشانگر ریزماهواره، مناسب بودن هر مکان ژنی را برای تخمین تنوع ژنتیکی نشان می دهد (۱۷)، بنابراین آغازگرهایی که تعداد آلل زیادی نشان داده اند برای بررسی تنوع ژنتیکی مناسب تشخیص داده می شوند. همچنین تعداد زیاد آلل مشاهده شده بیانگر تنوع بالای نمونه های *Ae. crassa* بومی ایران نسبت به تحقیقات قبلی *Ae. crassa* کشورهای دیگر می باشد (۸). البته این تعداد آلل نسبت به آلل های دیگر گونه های آریلوپس در برخی موارد کمتر می باشد. بطوریکه میانگین تعداد آلل مشاهده شده در این تحقیق نسبت به میانگین تعداد آلل مشاهده شده در تحقیق قبلی روی گونه *Ae. tauschii* کمتر می باشد (۱۵). با استفاده از فراوانی آللی، آماره PIC و MI برای هر نشانگر، به طور جداگانه محاسبه گردید که نتایج در جدول ۲ آمده است. نشانگر GWM161 بیشترین مقدار PIC (۰/۴۴) و نشانگر GWM642 بایشترین MI (۳/۲) و نشانگر 190 GWM کمترین PIC (۰/۱۶) و MI (۰/۶۴) را نشان دادند. تفاوت MI نسبت به PIC این است که در MI تعداد کل باند ها در نظر گرفته می شود ولی در PIC تعداد باندهای چندشکل در نظر گرفته می شود. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده، می توان گفت که نشانگر GWM161 با بیشترین PIC توانسته است بهتر از بقیه نشانگرهای استفاده

شده، فاصله ژنتیکی نمونه ها را مشخص کند. بنابراین می تواند به عنوان نشانگری که در تشخیص تنوع ژنتیکی کمک کند مورد استفاده قرار گیرد.

شباهت ژنتیکی محاسبه شده بر اساس اطلاعات نشانگرهای ریزماهواره از ۰/۳۶ (بین دو ژنوتیپ از کردستان و ایلام) تا ۰/۹۲ (بین دو ژنوتیپ از کردستان و آذربایجان غربی) متفاوت بود. میانگین شباهت ژنتیکی نیز ۰/۳۳۸ بدست آمد. این مقدار تشابه تا حدی زیادی با مطالعات دیگر آریلوپس ها بر اساس مارکر های مولکولی همخوانی داشت (۱۵، ۱۸).

با استفاده از تشابه بدست آمده بین نمونه ها گروه بندی آنها با استفاده از الگوریتم UPGMA انجام گرفت. دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر (شکل ۳) نمونه ها را در ۴ گروه عمده تقسیم بندی نمود. بطوریکه در گروه اول ۲۶ نمونه (۲۴ نمونه تترا و ۱ نمونه هگزاپلوئید)، در گروه دوم ۲۱ نمونه (۱۹ نمونه تترا و ۲ نمونه هگزاپلوئید)، در گروه سوم یک نمونه (هگزاپلوئید) و در گروه چهارم ۲۲ نمونه (۱۹ نمونه تترا و ۳ نمونه هگزاپلوئید) قرار داشتند. نتایج گروه بندی تجزیه کلاستر تا حد زیادی عدم ارتباط بین تنوع مولکولی و تنوع جغرافیایی را نشان می دهد. بطوریکه نمونه های جمع آوری شده در یک استان یا شهر در بسیاری از موارد در گروهها یا زیر گروههای جداگانه قرار گرفته اند که بیانگر تفاوت ژنتیکی بالایی این نمونه ها می باشد. از طرف دیگر بسیاری از نمونه هایی که در یک گروه قرار گرفته بودند از مناطق جغرافیایی متفاوت بودند که این مورد می تواند به دلیل تشابه شرایط میکروکلیمایی و یا تبادل فیزیکی مواد بین این مناطق باشد.

آنالیزهای UPGMA (شکل ۳) و PCO (شکل ۴) تا حد زیادی با همدیگر همخوانی داشتند و نشان دادند که تنوع خوبی بین نمونه های *Ae. crassa* بومی ایران وجود دارد. پراکنش نمونه ها در دو بعد تجزیه به مختصات اصلی در مجموع ۲۲/۵ درصد تغییرات را توجیه نمود که ۱۴/۵ درصد توسط بعد اول و ۸ درصد توسط بعد دوم توجیه می گردید (شکل ۴). این دو تجزیه نتوانست به خوبی نمونه های

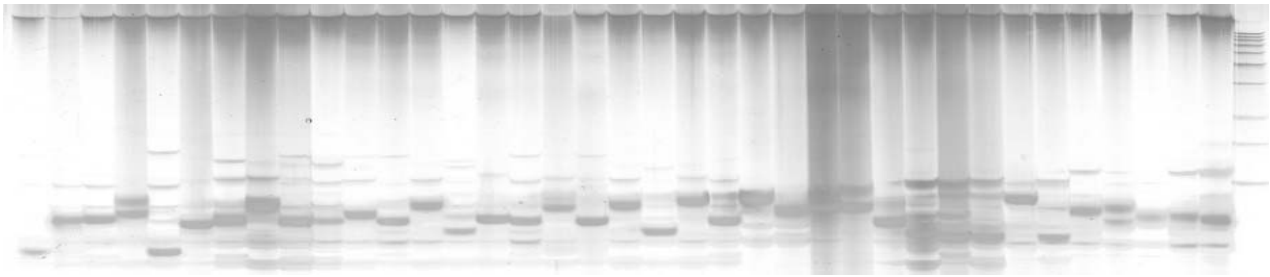
تتراپلوئید و هگزاپلوئید را از هم تفکیک کنند. دلیل عدم تفکیک دو سطح پلوئیدی را می توان به محدود شدن آغازگر های استفاده شده به ژنوم DD مشترک بین دو سطح پلوئیدی (۷، ۱۰) و یا تبادل بخش های کوچکی از ژنوم های مشترک بین دو سطح پلوئیدی نسبت داد.

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که نمونه های مورد بررسی از تنوع بسیار بالایی برخوردار می باشند و بنابراین از مارکر های SSR می توان برای مدیریت منبع ژنتیکی نمونه های *Ae. crassa* بومی ایران استفاده نمود همچنین

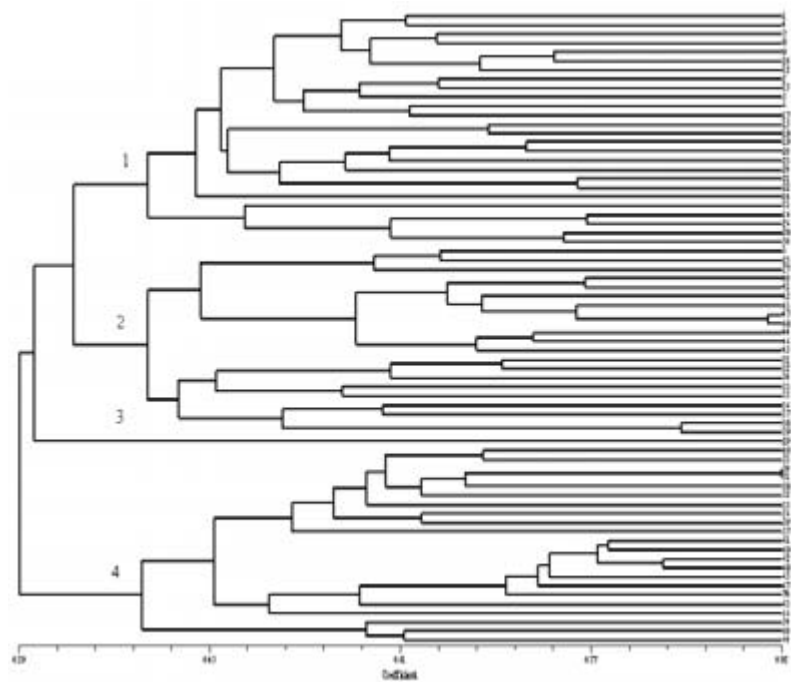
نتایج این تحقیق اطلاعات مفیدی را برای استفاده از این منابع ژنتیکی در جهت انتقال ژنهای مفید به گندم های زراعی در اختیار اصلاح کنندگان قرار می دهد. چنانکه اهمیت مطالعه این گونه در انتقال ژنهای مقاوم به خشکی به گندم نان مشخص شده است، همچنین نرغیمی سیتوپلاسمی در هیبرید بین برخی جمعیت های *Ae. crassa* و گندم هگزاپلوئید مشاهده گردیده است و استفاده از سیتوپلاسم این گونه در تولید بذر هیبرید گندم پیشنهاد شده است (۱۴، ۲۱).

جدول ۲- مشخصات پرایمر های مورد استفاده به همراه میزان اطلاعات چند شکلی (PIC) و شاخص نشانگر (MI) آنها

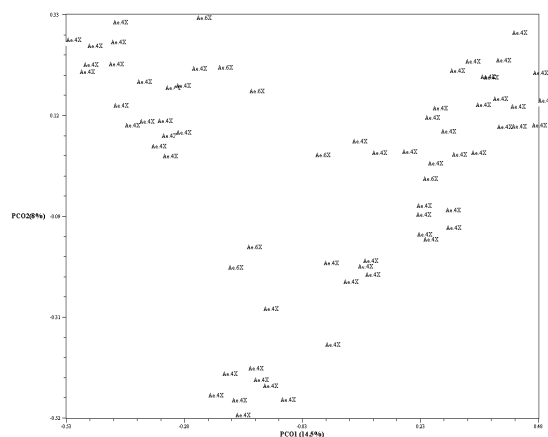
کد	مکان ژنی	توالی نشانگر 3' → 5'	موتیف	تعداد دماي اتصال	PIC	MI
۱	Xgwm33-1D	RF:CAC TGC ACA CCT AAC TAC G C LF:GGA GTC ACA CTT GTT TGT GCA	(GA) ^{۱۹}	۶۰	۱۰	۰/۲ ۲/۰۲
۲	Xgwm44-7D	RF:ACT GGC ATC CAC TGA GCT G LF:GTT GAG CTT TTC AGT TCG GC	(GA) ^{۲۸}	۶۰	۵	۰/۲۶ ۱/۳
۳	Xgwm55-6D	RF:TCA TGG ATG CAT CAC ATC CT LF:GCA TCT GGT ACA CTA GCT GCC	TC) ^۳ (T) ^۳ (CT) ^{۱۷}	۶۰	۷	۰/۳۵ ۲/۴۵
۴	Xgwm102-2D	RF:TGT TGG TGG CTT GAC TAT TG LF:TCT CCC ATC CAA CGC CTC	(CT) ^{۱۵}	۶۰	۸	۰/۲۶ ۲/۰۸
۵	Xgwm106-1D	RF:AAT AAG GAC ACA ATT GGG ATG G LF:CTG TTC TTG CGT GGC ATT AA	(GA) ^{۲۴}	۶۰	۱۰	۰/۲۵ ۲/۵
۶	Xgwm161-3D	RF:TGT GAA TTA CTT GGA CGT GG LF:GAT CGA GTG ATG GCA GAT GG	(CT) ^{۱۵}	۶۰	۲	۰/۴۴ ۰/۸۸
۷	Xgwm190-5D	RF:GTG CCA CGT GGT ACC TTT G LF:GTG CTT GCT GAG CTA TGA GTC	(CT) ^{۲۲}	۶۰	۴	۰/۱۶ ۰/۶۴
۸	Xgwm194-4D	RF:CGA CGC AGA ACT TAA ACA AG LF:GAT CTG CTC TAC TCT CCT CC	(CT) ^{۳۲} imp	۵۰	۷	۰/۲۹ ۲/۰۳
۹	Xgwm271-5D	RF:AGC TGC TAG CTT TTG GGA CA LF:CAA GAT CGT GGA GCC AGC	(CT) ^۴ imp(GA) ^{۱۰}	۶۰	5	۰/۲۶ ۱/۳
۱۰	Xgwm292-5D	RF:CCA CCG AGC CGA TAA TGT AC LF:TCA CCG TGG TCA CCG AG	(CT) ^{۳۸}	۶۰	9	۰/۲۴ ۲/۱۶
۱۱	Xgwm295-7D	RF:GAC GGC TGC GAC GTA GAG LF:GTG AAG CAG ACC CAC AAC AC	(GA) ^{۲۵}	۶۰	۸	۰/۳۶ ۲/۸۸
۱۲	Xgwm325-6D	RF:TTT TTA CGC GTC AAC GAC G LF:TTT CTT CTG TCG TTC TCT TCC C	(CT) ^{۱۶}	۶۰	۷	۰/۳۱ ۲/۱۷
۱۳	Xgwm341-3D	RF:CCG ACA TCT CAT GGA TCC AC LF:TTC AGT GGT AGC GGT CGA G	(CT) ^{۲۶}	۵۵	۸	۰/۲۸ ۲/۲۴
۱۴	Xgwm350-7D	RF:GCA TGG ATA GGA CGC CC LF:ACC TCA TCC ACA TGT TCT ACG	(GT) ^{۱۴}	۵۵	۶	۰/۳ ۱/۸
۱۵	Xgwm383-3D	RF:GAC ATC AAT AAC CGT GGA TGG LF:ACG CCA GTT GAT CCG TAA AC	(GT) ^{۲۷}	۶۰	۷	۰/۲۳ ۱/۶۱
۱۶	Xgwm458-1D	RF:TTC GCA ATG TTG ATT TGG C LF:AAT GGC AAT TGG AAG ACA TAG C	(CA) ^{۱۳}	۶۰	۳	۰/۲۸ ۰/۸۴
۱۷	Xgwm469-6D	RF:CGA TAA CCA CTC ATC CAC ACC LF:CAA CTC AGT GCT CAC ACA ACG	(CT) ^{۱۹} (CA) ^{۱۰}	۶۰	۸	۰/۳ ۲/۴
۱۸	Xgwm484-2D	RF:AGT TCC GGT CAT GGC TAG G LF:ACA TCG CTC TTC ACA AAC CC	(CT) ^{۲۹}	۵۵	۱۰	۰/۲۱ ۲/۱
۱۹	Xgwm539-2D	RF:GAG GCT TGT GCC CTC TGT AG LF:CTG CTC TAA GAT TCA TGC AAC C	(GA) ^{۲۷}	۶۰	۸	۰/۳۱ ۲/۴۸
۲۰	Xgwm642-1D	RF:CAT GAA AGG CAA GTT CGT CA LF:ACG GCG AGA AGG TGC TC	(GT) ^{۱۴}	۶۰	۸	۰/۴ ۳/۲



شکل ۲- الگوی بانندی تعدادی از نمونه های مورد بررسی در جفت Xgwm469. چاهک اول از سمت راست بیانگر سایز مارکر می باشد. نشانگر



شکل ۳- گروه بندی نمونه های مختلف *Ae. crassa* با استفاده از روش دایس و الگوریتم UPGMA. شماره اعداد در سمت راست دندروگرام معادل نمونه های مشخص شده در جدول ۱ می باشند.



شکل ۴- نحوه پراکنش سطوح پلوئیدی مختلف *Ae. crassa* ایران در پلات دو بعدی تجزیه به مختصات اصلی (PCO)

منابع

- 12-Lelley T, Stachel M, Grausgruber, H, Vollmann J (2000) Analysis of relationships between *Aegilops tauschii* and the D genome of wheat utilizing microsatellites, Genome 43: 661-668.
- 13-Lubbers EL, Gill KS, Cox TS, Gill BS (1991) Variation of molecular markers among geographically diverse accessions of *Ae. tauschii* genome. 34:345-361.
- 14-Murai K, Tsunewaki K (1993) Photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility in wheat with *Ae. crassa* cytoplasm. Euphytica 67: 41-48.
- 15-Naghavi MR, Mardi M, Pirseyedi SM, Kazemi M, Potki P, Ghaffari MR (2007) Comparison of genetic variation among accessions of *Aegilops tauschii* using AFLP and SSR markers. Genetic Resources and Crop Evolution 54: 237-240
- 16-Ranjbar M, Naghavi MR, Zali A, Aghaei MJ (2007) Multivariate analysis of morphological in accessions of *Ae. crassa* from Iran, Journal of Biological sciences 10(7): 1126-1129
- 17-Roder MS, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier MH, Gamal MW (1998) A microsatellite map of wheat. Genetics 149: 2007-2023.
- 18-Saeidi H, Rahiminejad MR, Vallian S, Harrison JS (2006) Biodiversity of diploid D-genome *Aegilops tauschii* Coss. In Iran measured using microsatellites. Genetic Resources and Crop Evolution. 53: 1-
- 18-Saeidi H, Rahiminejad MR, Vallian S, Harrison JS (2006) Biodiversity of diploid D-genome *Aegilops tauschii* Coss. In Iran measured using microsatellites. Genetic Resources and Crop Evolution. 53: 1-8
- 19-Saghai-Maroo MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW (1984) DNA spacerlength polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81: 8014-8018.
- 20-Thiel T, Michalek W, Varshney R K, Graner A (2003) Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). Theor. Appl. Genet., Vol. (106). Pp:411-422.
- 21-Valkoun J, Amri A, Konopka J, Street K, De Pau E (2006) Collection and conservation of genetic resources for dryland farming systems 13th Australian Agronomy Conference 10-15.
- ۱- رنجبر م، نقوی م، زالی ع، آقایی م، و ظریفی ع (۱۳۸۶) مطالعه سیتوتیپ های آژیلوپس کراسای بومی ایران، دومین همایش ملی زیست شناسی سلولی و مولکولی
- 2-Badaeva E D, Amosova A V, Muravenko O V, Samatadze T E, Chikida N N, Zelenin A V, Friebe B, Gill B S (2002) Genome differentiation in *Aegilops*. 3. Evolution of the D-genome cluster, plant Syst. Evol. 231: 163-190.
- 3-Bassam B., Caetano-Anolles J G, Gressho P M (1991) Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Anal. Biochem. 19: 680-683.
- 4-Dubkovsky J, Dvorak J (1995) Genome origin of *Triticum cylindricum*, *Triticum triunciale*, and *Triticum ventricosum* (Poaceae) inferred from variation in repeated nucleotide sequences: A methodological study. Amer. J. Bot. 81: 1327-1335.
- 5-Dudnikov A, Kawahara T (2006) *Aegilops tauschii*: genetic variation in Iran. Genetic Resources and Crop Evolution 53: 579-86.
- 6-Eig A (1929) Monographisch-Kritische Uebersicht der Gattung *Aegilops*. Report .spec.nov.reg.veg. Beih.55:1-228.
- 7-Friebe B, Badaeva ED, Zoshchuk SA, Gill BS (1998) Molecular cytogenetic analysis of tetraploid and hexaploid *Aegilops crassa*. Chromosome Research 6: 629-637.
- 8- Goryunova SV, Kochieva EZ, Chikida NN, Pukhalskyi VA (2004) Phylogenetic relationships and intraspecific variation of D-genome *Aegilops* L. as revealed by RAPD analysis. Russian Journal of Genetics 5: 515-523.
- 9-Kazutoshi O, Kaoru E, Bayarsukh N, Hisashi Y (1998) Genetic diversity of central Asian and north Caucasian *Aegilops* species as revealed by RAPD markers. Genetic Resources and Crop Evolution 4: 389-394.
- 10-Kihara H, Yamashita KY, Manaka, Sakamoto S (1958) Geographical distribution of 4x and 6x forms of *Aegilops crassa*. Wheat Information Service 5:11-12.
- 11-Kimber G & Feldman M (1987) Wild wheat, an introduction. College of Agriculture University of Missouri, Columbia. 142 pp.

- 22-Van Slageren MW (1994) Wild wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (jaub. and Spach) Eig (poaceae). Wageningen Agricultural University. Wageningen, the Netherland, pp: 94-107.
- 23-Waines J G, Hegde S G, Valkoun J (2002) Genetic Diversity in Wild and Weedy *Aegilops*, *Amblyopyrum*, and *Secale* Species A Preliminary Survey *Crop Science* 42:608-614.
- 24-Witcombe J R (1983) A Guide to the Species of *Aegilops* L. Their Taxonomy, Morphology and Distribution. Rome: IBPGR Secretariat.
- 25-Zaharieva M, Dimov A, Stankova P, David J, Monneveux P (2003) Morphological diversity and potential interest for wheat improvement of three *Aegilops* L species from Bulgaria. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50:507-517
- 26- Zhao Y H, Kimber G (1984) New hybrids with D-genome wheat relatives. *Genetics* 106:509-515.